Untersuchungen

über

die bisher für Öl oder Phloroglucin gehaltenen Inhaltskörper der Fucaceen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät der Landes-Universität Rostock

vorgelegt

von

Ludwig Koch

aus Brome (Prov. Hannover.)

ROSTOCK.

Carl Boldt'sche Hof-Buchdruckerei.

1896.

Referenten: Prof. Dr. **Falkenberg** und
Prof. Dr. **Michaelis.**

Während man die Bildung von Stärke als Assimilationsstoff bei allen grünen Pflanzen beobachtet hat, kennt man bei den Phaeophyceen und Diatomeen weder Stärke, noch sonst einen ähnlichen Stoff, welchen man in gleicher Weise als Produkt des Assimilationsprozesses ansehen könnte. In den verschiedenen, sich zum Teil widersprechenden Ansichten, welche von den Forschern über diesen Punkt ausgesprochen sind, giebt sich nun eine solche Unklarheit, auch in der neuesten Litteratur kund, dafs ich durch Herrn Professor Dr. Falkenberg veranlafst wurde, die so verschiedenen Behauptungen gegen einander experimentell abzuwägen, durch angestellte chemische Untersuchungen neu zu beleuchten und so mehr Klarheit zu schaffen.

Die ältesten Angaben darüber sind von Reinke[1] gemacht, der es als wahrscheinlich bezeichnet, dafs fettes Öl das Assimilationsprodukt der Fucaceen sei. Er schreibt: „Bei Behandlung mit Überosmiumsäure färbt sich der ganze protoplasmatische Inhalt der Epidermis und darunter liegenden Zellen tief braunschwarz, während in den inneren Zellen nur die einzelnen im Protoplasma vorhandenen stark lichtbrechenden,

---

[1] Pringsheims Jahrbücher für wissensch. Botan. Bd. 10 S. 328.

gröfseren Körnchen und Tropfen diesen Farbenton annehmen. Es können diese letzteren Körner und Tropfen hiernach nur Fett sein, da die Osmiumsäurefärbung für letzteren Stoff das weitaus charakteristische Reagens bildet; es wäre höchstens noch an eine Verwechselung mit Gerbstoff zu denken, allein letzterer wird mit Osmiumsäure vollkommen tintenschwarz, nicht braunschwarz gefärbt; auch färben sich die in Rede stehenden Zellinhalte von Fucus mit Eisensalzen gar nicht, wie denn Gerbstoffe im Fucus überhaupt gar nicht vorkommen. In den Epidermiszellen erstreckt sich die Braunfärbung nicht blos auf die feinen Körnchen, sondern auf den ganzen Inhalt, was darauf hindeutet, dafs hier das Fett in äufserst feiner Verteilung im Protoplasma gebildet wird. In grofsen, kugeligen Tropfen tritt das fette Öl als sekundäre Bildung in solchen Gegenden auf, wo es sich um Neubildung von Zellen handelt, wie im Bildungspunkt der Spitze und in Callusgeweben. Dazwischen mufs es in löslicher Form von der Stätte seiner ersten Bildung in den Chlorophyllzellen nach seinen Verbrauchsstätten hingeführt werden und hier wieder als Fetttropfen sich niederschlagen."

Diese Ansicht ist allmählich in die meisten Lehrbücher übergegangen, und da auch für

Hansen[1] diese Ansicht neuerdings wieder nach Vergleichung der verschiedenen Befunde als mit Sicherheit bewiesen erscheint, so sollte meine nächste Aufgabe sein, makrochemisch diesen mikrochemischen Befund nachzuprüfen, also ein fetthaltiges Extrakt von Phaeophyceen herzustellen und die Art dieses Fettes durch Hehner'sche, Reichert-Meissl'sche und Hübl'sche Jodzahl etc. weiter zu eruieren. Zu diesem Zwecke wurde eine grofse Menge Ectocarpus confervoides gesammelt, sorgfältig verlesen, schnell an der Luft (Juli) getrocknet und im Soxhlet'schen Ätherextraktionsapparat mit Quecksilberverschlufs längere Stunden extrahiert. Der so erhaltene Auszug gab keinen Fettfleck auf Papier, ebenso verliefen die nach dem Einengen mit dem braungelben Extrakt angestellten Fettreaktionen resultatlos. Ein Gleiches wurde mit sorgsam verlesenem Fucus vesiculosus versucht, aus welchem nach dem Trocknen zum besseren Ausziehen auf einer neuen Handmühle feines Pulver bereitet war, und zwar wurden 450 g trockenes Pulver angewandt, was ziemlich genau 3,5 kg frischem Fucus entspricht.

[1] Hansen. Über Stoffbildung bei den Meeresalgen. Mitteilung der zoolog. Station zu Neapel 11. Bd., 1./2. Heft, S 276: „Die Befunde, welche bis jetzt mitgeteilt wurden, scheinen mir mit Sicherheit den Beweis zu liefern, dafs die Phaeophyceen bei der Assimilation keine Stärke, sondern Fett produzieren."

Weder mit Petroläther oder Äther noch mit Schwefelkohlenstoff oder absolutem Alkohol konnte ein fetthaltiger Extrakt gewonnen werden. Fett also enthielten die kleinen Bläschen, die im Fucus sehr deutlich von den Vacuolen zu unterscheiden sind, nicht und waren also keine Fetttröpfchen, wofür sie Reinke glaubte ansprechen zu müssen, weil sie ein starkes Lichtbrechungsvermögen zeigen und sich mit Osmiumsäure dunkel färben. — Aber letzteres thun auch die Gerbstoffe; also drängte sich die Frage auf, ob Berthold[1] Recht habe, der sie für Gerbstofftröpfchen hielt. Es wurde deshalb versucht, ob irgend eine Gerbstoffreaktion diese Ansicht stützte. Aber alle von Nickel und Zimmermann angegebenen Reaktionen versagten, und auch wasserfreies Eisenchlorid, in absolutem Äther oder in konzentrierter Salzsäure gelöst, ergab nichts, so dafs im Fucus sicher kein Gerbstoff vorkommt.

Für die Crato'sche[2] Ansicht über diese

---

[1] Berthold: Studien über Protoplasmamechanik. Leipzig 1886 S. 56.

[2] Botan. Zeitg. Jahrg. 51 1893. S. 158. E. Crato. Morphologische und mikrochemische Untersuchungen über die Physoden: „Sowohl bei Fucus vesiculosus als auch bei Fucus serratus finden sich in den parenchymatischen Zellen eine grosse Anzahl meist um den Kern herumgelagerter Physoden. Zunächst erscheinen dieselben als dichte, inmitten der Zellen gelegene, stark lichtbrechende Kügelchen“ etc.

kleinen Bläschen, von ihm Physoden genannt, fand ich insofern sofort Bestätigung, als ich auch die von ihm beobachtete Bewegung deutlich wahrnahm, obwohl dieselbe bei dem mir vorliegenden Fucus so langsam war, dafs eine Beobachtung sich immer durch mehrere Stunden erstrecken mufste, um mit dem Abbé'schen Zeichenapparat unterschiedlich skizziert werden zu können. Ob diese Bewegungen nun autonom[1] oder passiv von Verschiebungen des Plasmas abhängig sind, wie Bruns[2] meint, soll hier nicht entschieden werden. Was jedoch den Inhalt dieser Bläschen anbelangt,

---

[1] Ebenda S. 159: „Man sieht bei Fucus die Physoden in dem seine Lage fast gar nicht verändernden Lamellensystem unter häufiger amöboider Formveränderung umherkriechen."

[2] Flora, Allgem. Bot. Ztg. Bd. 79 1894. S. 169. E. Bruns. Über die Inhaltskörper der Meeresalgen: „Ich kann konstatieren, dafs ein zuweilen sehr auffälliges Verschieben der einzelnen Lamellen stattfindet, so dafs die Annahme, nach welcher das Plasma das primär bewegende ist, viel mehr Wahrscheinlichkeit für sich gewinnt. Aber auch dann, wenn das Plasmanetzwerk sich nicht verändert, ist man durch nichts gezwungen, derartigen mit Flüssigkeit gefüllten Bläschen eigenes Bewegungsvermögen zuzuschreiben. Denn nach allem, was wir vom Plasma wissen, ist es mindestens wahrscheinlich, dafs auch in den Fällen, in welchen keine Bewegung desselben zu bemerken ist, ein Verschieben der einzelnen kleinen und kleinsten Teile fortwährend stattfindet. Diese Bewegung der Teilchen des Protoplasmas erkennen wir in unserem Falle an der Ortsveränderung der passiv mit fortbewegten Bläschen."

so konnte Hansteens[1] »Fucosan« nicht lange in Erwägung kommen, da es, wie anderen Forschern, auch mir nie gelungen ist, bei Phaeophyceen eine Stärkereaktion zu erhalten. Es blieb also zunächst übrig, auf die von Crato und Bruns beobachtete „Phloroglucinreaktion“ durch Vanillin-Salzsäure weiter zu fufsen. Auf den Wert dieses von Höhnel, Wiesner und Lindt vorgeschlagenen und von Waage[2] in die Mikrochemie eingeführten Reagens komme ich unten zurück. Bei den jetzt zu beschreibenden Untersuchungen mufste ich mich ohne gröfsere eigene Erfahrung auf das Urteil früherer Forscher wie Waage, Crato, Bruns u. a. stützen, welche das Reagens lebhaft empfehlen. Es hat durch ihre Wertschätzung auch Aufnahme in sämtliche mikrochemische Analysenbücher gewonnen und eine hervorragende Anwendung bei derartigen Untersuchungen gefunden.

Der mit dem Reagens angestellte Versuch ergab, dafs Fucus vesiculosus besonders in den

---

[1] Pringsheims Jahrb. f. wiss. Botan. 1892 B. XXIV S. 317. Berth. Hansteen: Studien zur Anatomie und Physiologie der Fucoideen.

[2] Ber. d. deutsch. bot. Ges. 7. Jahrg. 1890 S. 250. Th. Waage: „Ueber Vorkommen und die Rolle des Phloroglucins in der Pflanze.“

jungen Conceptaculis der generativen Spitzen intensiv reagierte, doch war eine Rotfärbung der Bläschen allein nicht zu erreichen, sondern es trat immer bald eine diffuse Färbung auch des ganzen Zellinhaltes ein, was vielleicht von dem leichten Platzen der Bläschen herrührt oder davon, dafs die Bläschenwand permeabel wird durch das vom Reagens bewirkte Absterben des Protoplasten, so dafs sich dann der Inhalt im Protoplasma mehr oder weniger diffus verteilt. Parallele Dunkelkulturen liefsen diese Reaktion auch noch nach Wochen nicht vollständig verschwinden. Das sehr langsame Abnehmen der Reaktion resp. das verzögerte Verschwinden eines für Assimilationsstoff gehaltenen Körpers darf keine Verwunderung erregen, wenn man bedenkt, in wie hohem Grade bedürfnislos gewisse maritime Thallophyten in Bezug auf Licht sind. Kjellmann[1] hat bei Untersuchung der Meeresalgen der polaren Meere gefunden, dafs bei Spitzbergen an den Algen der dortigen Meeresflora nicht nur die vegetative Weiterentwickelung ihres Thallus trotz der dreimonatlichen Polarnacht ungestört vor sich ging, sondern dafs die meisten Algen (bei einer Wasser-

[1] Kjellmann: Végétation hivernale des Algues à Mosselbay, observ. pendant l'expédition sued (Comptes rendus; Paris 1875, Tome 80).

temperatur von durchschnittlich — 1° C.) gerade in dieser Zeit fruktifizierten.

Es war also bei den Dunkelkulturen ein langsames, aber deutliches Abnehmen der Intensität der Reaktion wahrnehmbar, und es wird dadurch erwiesen, dafs die Bläschen einen Stoff enthalten, welcher bei Bedarf dem Verbrauch unterliegt. Es stimmen meine Beobachtungen über den Konsum in der Pflanze mit den von Reinke und Crato angegebenen Wahrnehmungen vollständig überein, von denen letzterer darüber sagt, dafs beim regen Wachstum ein Verbrauch des Physodeninhaltes proportional ging. So waren in den Zellen mit noch wenig Plasmalamellen eine grofse Anzahl von Physoden enthalten, während in den Zellen mit dem dichten Lamellensystem sich ganz erheblich weniger und zugleich kleinere Physoden befanden. Bei der Bildung der Conceptakeln findet in dem ersten Stadium, d. h. bei der Bildung des kompakteren Zellkomplexes, ebenfalls ein beträchtlicher Verbrauch von Physodeninhalt statt, so dafs ungefähr zu der Zeit, wo die ersten Oogonien angelegt werden, nur noch winzig kleine Physoden in den Conceptakelzellen enthalten sind. Bei dem Heranwachsen der Oogonien findet dann eine reichliche Vermehrung der Physoden statt, so dafs nach der Teilung des Oogo-

niums jedes junge Ei einen beträchtlichen Teil von Physodeninhalt (plastischen Baustoffen) mitbekommt. Die Physoden stellen also Behälter mit wichtigen chemischen Baustoffen für die Pflanze dar.

Ich versuchte nun, den für Phloroglucin angesprochenen Stoff zu isolieren. Da das Phloroglucin leicht löslich in 90%igem Alkohol ist, so digerierte ich getrocknetes Material am Rückflufskühler längere Zeit damit, engte den Extrakt stark ein und erhielt nach dem Auskrystallisierenlassen erhebliche Krystallmengen, die nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol immer noch gelblich waren, aber mit Vanillin-Salzsäure recht gute Rotfärbung gaben. Jedoch hatte ich so noch kein einheitliches Salz, denn unter dem Mikroskop sah ich lange Krystallnadeln und reguläre Oktaeder. Eine Trennung der Krystalle durch verschiedene Lösungsmittel führte zu nichts, da das anscheinend reagierende Salz entweder nicht aufgenommen wurde, oder die anderen Krystalle wieder mit auskrystallisierten, wie das Mikroskop leicht auswies.

Eine vollständige Befreiung von dem Phycophaeïn war auch sehr schwierig, da es sich entgegen F. Schütz[1] sehr leicht in Alkohol löslich

[1] Bot. Jahresbericht 1887, 15. 1. S. 197.
NB.: In einem späteren Bericht erklärt Schütz allerdings auch: „Phycophaeïn bei Fucus verhält sich anders."

erwies, weniger in Wasser, aber schwer- oder unlöslich war in Äther, Benzol, Benzin, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, also durch Ausschütteln nicht beseitigt werden konnte. Säuren, Ammoniak, schweflige Säure veränderten ebenfalls den Farbstoff nicht wesentlich. Ein öfteres Schütteln mit animalischer Kohle führte allerdings zum Ziel, aber das Filtrat war nicht blofs quantitativ, sondern auch qualitativ verändert, insofern der Verdampfungsrückstand desselben sich mit Vanillin-Salzsäure nicht mehr rötete und also entweder durch den in der Kohle energischer wirkenden Sauerstoff eine Oxydation stattgefunden haben mufste oder, wie unten gezeigt wird, zurückgehalten worden war.

Wurde dem alkoholischen Extrakt Äther zugesetzt, so fiel direkt ein Salzgemisch aus mit guter Reaktion, was zu der von Crato[1] behaupteten Eigenschaft, dafs der Physodeninhalt, welcher mit Vanillin-Salzsäure reagierte, sich klar mit Äther mischt, in unvereinbarem Widerspruche steht, jedoch sich leicht so erklären läfst, dafs sich die Agentien mit dem reichlich vorhandenen Zellsaft mischen und so ein stark wäfsriger Äther ent-

[1] Bot. Zeitg. 51. Jahrg. 1893, S. 171: „Eine Physode von Fucus besteht aus einem Tröpfchen einer mit Wasser, Spiritus und Äther leicht mischbaren, flüssigen Substanz resp. Substanzgemenge."

steht, der nun durch seinen Gehalt an Wasser proportional diesem als Lösungsmittel fungieren kann. Ich habe diese Möglichkeit experimentell bestätigt gefunden, während absoluter Äther aus trockenem Extrakt nichts aufnimmt.

Da ich so eine Reinigung des reagierenden Stoffes nicht erzielen konnte, versuchte ich einen anderen Weg, wobei ich mich von der Beobachtung leiten liefs, dafs die Krystalle in Wasser sehr leicht löslich waren, mit Äther dagegen ausfielen. Gleichzeitig wollte ich der Unannehmlichkeit ausweichen, dafs das Phycophaeïn, als in Alkohol leicht löslich, später nicht mehr gut beseitigt werden konnte. Aus diesem Grunde wurde frischer Fucus fein zerschnitten, mit destilliertem Wasser bei Zimmertemperatur mehrere Tage maceriert und der sehr schleimige Auszug unter Zuhilfenahme der Strahlpumpe filtriert. Es war eine nur unmerklich gelbliche, stark fadenziehende, höchst schleimige Flüssigkeit, die gute Reaktion mit Vanillin - Salzsäure gab. Allein die Farblosigkeit hielt nicht lange an, sondern schon das letztfiltrierende sah gelbrötlich aus und wurde nach dreitägigem Stehen an der Luft rotbraun, ohne aber die Reaktion im Geringsten einzubüfsen. Diese Dunkelfärbung war nicht etwa eine durch Mikroorganismen hervorgebrachte, da ich das Filtrat getrennt ohne und mit Zusatz verschiedener Desinfektionsmittel aufbewahrte. Die Dunkel-

färbung trat auch bei dem hellsten Filtrat sofort ein, wenn ich es erwärmte, deshalb sahen alle im strömenden Dampf sterilisierten Auszüge braunrot aus. Diese Farbe war durch nichts zu beseitigen, sondern substantielle Eigentümlichkeit. Ich schrieb diesem Farbenwechsel auch wenig Bedeutung bei, sah ihn vielmehr als Bestätigung der Annahme an, dafs das reagierende Prinzip thatsächlich Phloroglucin sei, da man an allen Lösungen, selbst von reinem Phloroglucin, beobachten kann, dafs sie sich bald dunkelbraun färben, wie vielmehr konnte es nicht mein Auszug thun, der noch von zahlreichen anderen Pflanzeninhaltsstoffen beeinflufst sein mufste.

Da nun aber die grofse Menge des Schleims eine Krystallisation des gesuchten Salzes verhindert haben würde, so beschlofs ich, das betreffende Salz nach dem Gange der toxikologischen Analyse zu isolieren. Ich dampfte deshalb mit sauber gereinigtem Seesand auf dem Wasserbade zur Trockne, versuchte den vorhandenen Farbstoff durch mehrmaliges Ausziehen mit Äther möglichst zu beseitigen und nahm nun mehrmals mit 90%igem Alkohol auf, wobei die grofse Menge des Schleims zurückblieb. Hierbei fiel mir auf, dafs der Äther keine Spur eines reagierenden Salzes beim Verdunsten zurückliefs, während ich mich doch durch mehrfache Versuche überzeugt hatte,

dafs Phloroglucin sehr leicht darin vollständig löslich ist. Die vereinigte spirituöse Lösung brachte ich nach dem Einengen in eine Kältemischung zum Auskrystallisieren und erhielt nun Krystalle, die sich mit Vanillin-Salzsäure intensiv rot färbten. Unter dem Mikroskop zeigten diese Krystalle einen excentrisch geschichteten, sphärokrystallähnlichen Bau, von denen oft mehrere durch gemeinsame Schichten zu einem System eingeschlossen waren. Liefs man unter dem Deckglas langsam Vanillin-Salzsäure zutreten, so sah man, dafs sich der Krystall von aufsen nach innen rot färbte, sich gleichzeitig auflösend, so dafs man nach einiger Zeit an seiner Stelle den kleinkörnigen roten Niederschlag sah, wie ein solcher auch eintritt, wenn man Phloroglucin mit Vanillin-Salzsäure zusammenbringt, und der wahrscheinlich ein farbiges Derivat der Triphenylmethangruppe darstellt.

Ich hielt das gewonnene Produkt nun für einen Phloroglucinabkömmling, und wenn die Reaktion auch noch nicht intensiv genug für reines Salz war, so wurde solches auf Beimengung anderer Stoffe geschoben, die mit gelöst sein konnten. Um diese nun zu entfernen und das Phloroglucin zum neuen Auskrystallisieren allein in Lösung zu bekommen, wurde mit Äther-Alkohol und absolutem Alkohol mehrmals aufgenommen,

da ich mich überzeugt hatte, dafs diese Stoffe wirkliches Phloroglucin fast momentan lösen. Bei dieser Operation fand ich merkwürdiger Weise, dafs das neu auskrystallisierte Salz viel schwächer und nach mehrmaligem Umkrystallisieren überhaupt nicht mehr reagierte, obwohl das Salz obige Struktur genau bewahrt hatte. Ich schob diese Erscheinung zunächst auf die leichte Zersetzbarkeit des Phloroglucins, von der verschiedene Autoren z. B. E. Nickel[1] sprechen. Gleichzeitig machte ich aber auch die Wahrnehmung, dafs die anfangs gelblichen, klebrigen und hygroskopischen Krystalle nun weifs, sehr spröde und anhydrisch geworden waren. Beim nochmaligen Versuch vermied ich etwaiger Zersetzung wegen jede Erwärmung, erhielt aber wieder gleiches Resultat.

Wie waren nun diese Vorgänge zu erklären?! Ich hatte doch aus einem gut auf angeblich Phloroglucin reagierenden Salzgemisch durch Anwendung der besten Lösungsmittel für Phloroglucin dieses nicht herausziehen können, sondern vielmehr gefunden, dafs bei jeder neuen Umkrystallisation die Reaktion erheblich zurückging; ich hatte aber doch hierbei kein anderes neues Lösungsmittel, sondern nur einen höher prozentischen Alkohol genommen. Sollte vielleicht

[1] Emil Nickel, Die Farbenreaktionen der Kohlenwasserstoffverbindungen, Berlin 1890, S. 26.

das fast vollständige Fehlen an Wasser den Alkohol und Äther jetzt als Lösungsmittel für den Reaktionsstoff ausschliefsen? Wenn dem so war, so konnte das reagierende Agens sicher kein Phloroglucin sein, weil es die gewöhnlichsten physikalischen Eigenschaften desselben nicht hatte. Um diese Frage zu entscheiden, zog ich jetzt dieselben Krystalle, die mit absolutem Alkohol das Phloroglucin schnell zurückgelassen hatten, der Reihe nach mit 60%igem Alkohol aus und siehe da, die Reaktion mit Vanillin-Salzsäure blieb in gleicher Stärke, so oft ich auch ein Umkrystallisieren vornahm. Zwar wurden die Krystalle, wie früher beabsichtigt, dabei nicht reiner, sondern behielten stets einen gelblichen, klebrigen Anflug und waren hygroskopisch; aber ich gewann durch weitere Versuche immermehr die Überzeugung, dafs der reagierende Stoff viel besser im Wasser, dagegen in Alkohol überhaupt nur löslich sei im Verhältnis seines Wassergehaltes. Da nun Äther sehr wenig Wasser aufzunehmen imstande ist, so war er darin so gut wie unlöslich gewesen. Welcher Stoff konnte das aber wohl anders sein, als der Schleim, welcher ja in alle Extrakte hineingegangen und in meinem wäfsrigen Auszug in grofser Menge vorhanden war, der durch zugesetzten Äther eine deutliche Fällung erlitt, und der nun von den ausgeschiedenen Krystallen mit-

gerissen sein mufste, diese mit einer zarten Membran umhüllend und sie so gelblich und klebrig erscheinen liefs, sowie ihnen irrtümlich Reaktion verlieh! Auch, dafs frühere Lösungen zum Entfernen der gelblichen Farbe durch Schütteln mit Tierkohle zugleich mit der Farbe ihre Reaktion einbüfsten, fand so leicht Erklärung, da die Schleimfäden an den Partikeln der Kohle oder in den Kapillaren derselben festgehalten werden, wie ja überhaupt die entfärbende Eigenschaft der Kohle auf ähnliche Molekularwirkungen, wie bei den Vorgängen der Osmose, zurückgeführt wird, bei der der Schleim als Colloidsubstanz in gleicher Weise zurückgehalten wird. Es befestigte sich aus allen Beobachtungen in mir nun immer stärker die Überzeugung, dafs, entgegengesetzt der bisherigen Annahme, Phloroglucin hier überhaupt nicht präformiert vorkomme, da es mit den besten Lösungsmitteln nicht zu fassen war, sondern nur der specifische Schleim ähnliche Reaktion gebe, wahrscheinlich wie analoge Verbindungen im Tier- und Pflanzenreich durch Spaltung in phenolartige Körper übergehen. Um diese meine gegenläufige Ansicht weiter zu stützen, stellte ich nun einen Auszug mit 25 %igem Alkohol her durch mehrtägiges Macerieren bei Zimmertemperatur; ich wählte nicht wieder allein Wasser, weil ich bei weiteren Versuchen gemerkt

hatte, dafs nicht aller reichlich vorhandener Schleim die Reaktion gebe, sondern nur der in geringerer Menge vorkommende dünnflüssige, hyaline Schleim, der weder von mäfsig konzentriertem Alkohol gefällt, noch beim Erhitzen koaguliert wird und sich in alkoholischer Lösung ohne jede Schwierigkeit filtrieren läfst. Nachdem ich so wieder einen reaktionskräftigen Auszug erhalten hatte, füllte ich denselben in Pergamentschläuche ohne Naht und legte dieselben mehrere Tage zur Dialyse in ein Gefäfs mit destilliertem Wasser, welches ich so oft erneuerte, als das Aussenmedium sich noch färbte und die Chlor- oder Jodoformprobe gab. Nun dampfte ich das gesammelte destillierte Wasser, welches eine gelbbraune Farbe angenommen hatte, auf dem Wasserbade ein, um zu sehen, ob ein reaktionsfähiges Salz diffundiert sei. Ich erhielt zwar viel Salzkrystalle, aber ohne jede Reaktion mit Vanillin-Salzsäure; auch als ich bis zum dicken Extrakt eingeengt hatte, trat nicht die geringste Rotfärbung ein. Dagegen zeigte der Inhalt des Schlauches, welcher durch grofse osmotische Anziehung auf das Fünffache seines früheren Volumens angewachsen war, mit jedem einzelnen Tropfen unvermindert die schönste Reaktion, so dafs das Agens zweifellos eine Krystalloidsubstanz sein mufste. Darauf stellte ich

zum Überfluſs noch die Gegenprobe an, indem ich in denselben Schlauch einen neuen Teil des Auszuges füllte, welcher durch Schütteln mit wenig einer verdünnten Lösung von Phloroglucin des Handels vermischt war. Als ich jetzt das umgebende destillierte Wasser untersuchte, fand ich schon nach einer Stunde deutliche Reaktion, und nach zwölf Stunden muſste, nach der Abnahme der Reaktion zu urteilen, bereits alles Phloroglucin in das öfter erneute Aufsenmedium hinausdiffundiert sein. Den als Phloroglucin wiedergewonnenen Rückstand konnte ich auch leicht von einer Stelle zur andern sublimieren, auch erhielt ich an den einzelnen Orten der Sublimationszone die stärksten Reaktionen auf Phloroglucin, während der Verdampfungsrückstand des Versuchs mit dem Fucusextrakt kein Sublimat mit Phloroglucinreaktion ergab trotz vorzüglicher Reaktion mit Vanillin-Salzsäure.

Ich hatte durch obige Dialyse — den mit Phloroglucin versetzten Teil verwandte ich nicht — einen zwar mit verdünntem Alkohol ausgezogenen, aber jetzt rein wäfsrigen Extrakt erhalten, der frei war von allen salzartigen Beimengungen. In demselben hatte sich ein grünliches Pulver abgesetzt, wahrscheinlich ein chlorophyllartiger Farbstoff, der durch Alkohol zuvor in Lösung gehalten war, aber jetzt leicht abfiltriert werden

konnte. Um zu sehen, ob flüchtige Bestandteile vielleicht gebildet würden, wurde der dialysierte Auszug mit eingeleitetem, überhitztem Wasserdampf destilliert. Es trat beim Erwärmen wieder die schon oben erwähnte Dunkelfärbung ein, aber in die Vorlage ging keine reaktionsfähige Flüssigkeit über. Der Rückstand behielt dagegen unvermindert die schönste Reaktion. Auch als ein kleiner Teil auf dem Wasserbade eingedampft war und trocken noch die stärkste Reaktion zeigte, konnte man bei öfter versuchtem Erhitzen bis zum Glühen in dem verwandten Glührohrchen keine Spur eines Sublimats finden, was sich dagegen bei wirklichem Phloroglucin, in gleicher Weise behandelt, von einer Stelle zur anderen treiben liefs und an jedem Ort die charakteristische Reaktion gab.

Blicken wir nun zurück auf meine ersten Reaktionen mit Vanillin-Salzsäure, so hatte ich bereits damals gefunden, dafs dieselbe an den generativen Spitzen am stärksten war und je weiter den Thallus hinunter successive abnahm. Im Verlauf der weiteren Untersuchung haben wir dann gesehen, dafs dieses Agens ein so eigentümlich reagierender Schleim ist. Es ist nun nicht allein interessant, sondern specifisch wichtig, dafs auch gerade die generativen Spitzen die schleimreichsten Teile am ganzen Fucus sind,

wie ich denn auch, um reaktionskräftigstes Material zu verarbeiten, nur die abgeschnittenen und zerkleinerten Conceptacula mit den daran sitzenden nächsten Teilen als Versuchsobjekte präparierte.

Sehen wir uns nun auch einmal die Meinung an, welche über das Vorkommen des wirklich isolierten Phloroglucins ausgesprochen wurde, so ist sie hier wenig haltbar. So sagt Rusgen[1], wo von dem reciproken Vorkommen des Gerbstoffes und Phloroglucins die Rede ist, dafs Phloroglucin nur da vorkommt, wo Gerbstoff vorhanden ist. Gerbstoff konnte aber, wie oben gezeigt und auch von Reinke bereits bemerkt, bei Fucus nicht nachgewiesen werden.

Aus dieser indirekten Unwahrscheinlichkeit und obigen direkt geführten Versuchsbeweisen geht aber unzweifelhaft hervor, dafs die Reaktion bei Fucus nicht durch Phloroglucin hervorgerufen wird, wie Waage, Crato, Bruns[2] u. a. m. angeben, sondern es ist die specifische Reaktion eines Schleimes — resp. Eiweifsstoffes — und hat mit der ähnlich aussehenden Reaktion von Phloroglucin nichts zu thun.

Um vielleicht einen Unterschied beider Substanzen in ihrer Reaktion zu finden, prüfte ich

[1] Jen. Zeitschr. f. Nat.-Wiss. XXIV. Sep.-Abd. S. 24.

[2] Flora, Allgem Bot. Zeitg. Bd. 79 1894, E. Bruns: Über die Inhaltskörper der Meeresalgen.

sie parallel mit nachstehenden Körpern. Dabei begegnete ich einer falschen Deutung dadurch, dafs erst geprüft wurde, ob sich die Körper nicht allein mit den Säuren färbten; wenn dies der Fall war, wurde auf den Farbumschlag nach Hinzubringung von Fucusextrakt oder Phloroglucin geachtet. In solcher Weise wurde Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, salpetrige Säure, Essigsäure auf parallele Mischungen kalt oder warm einwirken gelassen. Hierbei erzielte ich keine besonderen Färbungen mit Formaldehyd, Acetaldehyd, Aceton, Paraldehyd, Methylal, Glyoxal, Benzophenon, Pinakon, Isatin, Acetophenon, Phoron, Guajakol, Furfurol, Ol. Sassafrass, Phenanthrenchinon.

Dagegen gaben Benzaldehyd, Salicylaldehyd, Paroxybenzaldehyd, Anisaldehyd, Dioxybenzaldehyd, Zimmtaldehyd, Kreosol, Xylidin, Cuminol, Eugenol, Piperonal dem Vanillin ähnliche oder dieselben Farbtöne. Ich verzichte jedoch, die betreffenden Unterschiede von Fucusextrakt und Phloroglucin in einer Tabelle beizufügen, da die Färbungen mir keine genügend charakteristische Unterscheidungsmerkmale boten.

Dafs nun mit den vielen chemischen Körpern keine wesentlich unterscheidende Reaktion zu erzielen war, liegt bei näherer Betrachtung ziemlich nahe, denn sie stellen alle aldehyd- oder keton-

artige Körper dar, bei denen ein Prozefs zur Farbkondensation stets in sehr ähnlicher oder eben in gar keiner Weise vor sich gehen mufste. Interessant ist vielleicht nur dabei, dafs die Verbindungen der aliphatischen Reihe niemals eine Färbung geben, und also der aromatische Kern, analog anderen Farbstoffen, die erste Prämisse für das Eintreten der Reaktion bildet. Als ich nun aber einen anderen Gesichtspunkt wählte, fand ich bald erhebliche Unterschiede. Es wird in allen chemischen Werken als charakteristischste Reaktion für Phloroglucin angegeben, dafs es sich mit Eisenchlorid in wäfsriger Lösung blauviolett färbt. Die Deutlichkeit dieser Reaktion, welche ja auch zum Nachweis anderer Phenole dient, läfst auch bei Phloroglucin noch minimale Mengen erkennen, wie ich mich überzeugte. Crato erwähnt diese wichtigste Reaktion garnicht, scheint aber an dieselbe gedacht zu haben, wenn er in oben erwähnter Abhandlung S. 190 schreibt: „Es kann nicht erwartet werden, dafs, wenn Phloroglucin der in allen Physoden (d. h. der erwähnten braunen Algen) vorkommende Körper sei, sämtliche Reaktionen auf Phloroglucin so eintreffen, als ob wir mit chemisch reinem Phloroglucin arbeiteten.“ — Nun habe ich einer verdünnten Lösung von Phloroglucin sehr grosse Mengen aus Seewasser durch Einengen gewonnenes Salz-

gemisch und das bei der Dialyse erhaltene zugesetzt, aber die Reaktion blieb nichtsdestoweniger so scharf, dafs sie gegen reines Salz an Deutlichkeit nicht wahrnehmbar eingebüfst hatte. Denn, dafs der stark eintretende dunkle Ton der Reaktion eine Schattierung ins Gelbbraune überschlug, macht doch für die Erkennung des Eintretens der Reaktion nichts Wesentliches aus. Ich beobachtete dann die Reaktion mit Eisenchlorid an Phloridzin und dem Spaltungsprodukt desselben Phloretin, beide von E. Merck bezogen, teils als reine Salze angewendet, teils stark mit Seesalz versetzt. Die Reaktion sieht hier von vornherein mehr gelbbraun aus, aber sie war auch bei den wiederum mit fremden Salzen gemischten Proben stets eine äufserst scharfe und charakteristische. Da nun Eisenchlorid nicht wesentlich mit den Physoden reagiert, und ich auch mit meinem dialysierten, also von Salzen freien Schleim keine Reaktion erhielt, so liegt auch hierin ein direkter Beweis, dafs Phloroglucin nicht vorhanden war. Ich will hierbei gleich noch bemerken, dafs ich, wie jetzt, auch später stets einen Schleim meine, der mit Vanillin-Salzsäure die ausgiebigste Reaktion zeigte.

Auch die für salpetrige Säure von Schönlein angegebene Identitätsreaktion konnte ich recht gut anwenden, indem ich die Prämissen umkehrte und

dann statt des Pyrogallol das isomere Phloroglucin nahm. Das Reagens bereitete ich demnach aus:

0,5 g Phloroglucin,
90 ccm Aqua dest.,
10 „ konz. Schwefelsäure.

Von diesem Reagens werden vier Tropfen zu 10 ccm eines salpetrige Säure enthaltenden Wassers zugesetzt; die Reaktion trat deutlich und schön ein. Als ich aber für Phloroglucin den konzentrierten Fucusextrakt in den verschiedensten Mengen substituierte, blieb jede Färbung aus.

Wenn ich nun aber durch Vanillin-Salzsäure eine Rotfärbung bei meinem isolierten Inhaltsstoff erhielt und trotzdem kein Phloroglucin isolieren d. h. also positiv nachweisen konnte, auch das physikalische Verhalten der Substanz bei der Diosmose von vornherein die Anwesenheit von Phloroglucin unmöglich erscheinen liefs, und ich deshalb behaupte, dafs es auch wirklich entgegen früherer Annahme nicht vorhanden ist, so mufste aber auch die — wie oben erwähnt — als „Phloroglucinreaktion“ eingeführte Reaktion überhaupt keine specifische oder nicht, wie von den Forschern angegeben, eine Art Identitätsprobe[1]

[1] Flora, Allgem. Bot. Zeitg. Bd. 79 1894, E. Bruns, Inhaltskörper der Algen S. 161: „Crato kommt zu dem Schlufs, das die Tröpfchen in den Fucuszellen aus Phloroglucin bestehen, wobei er sich mit Recht auf die intensive Rotfärbung derselben mit Vanillin-Salzsäure stützt.“

sein und keineswegs den sicheren Schluſs auf das Vorhandensein von Phloroglucin bedingen. Denn meine obigen Resultate schlieſsen ja a priori als conditio sine qua non den positiven Wert des Reagens vollständig aus, und im gleichen Maſse, wie ich die Glaubwürdigkeit für meine Funde beanspruchte, muſste ich die Hinfälligkeit in der Bedeutung als Phloroglucinreagens durch weitere ähnliche, aber von anderen Stoffen hervorgerufene Farbreaktionen nachweisen und wahrscheinlich machen, daſs meine Substanz eine Atomgruppe enthielt, die unabhängig von Phloroglucin, die ähnlich aussehende Reaktion veranlaſste. Da ich nun keinen Augenblick zweifelte, daſs diese logische Folge auch, als in Wirklichkeit vorhanden, auf die eine oder andere Weise nachgewiesen werden könnte, und so die Richtigkeit meiner Befunde in notwendiger Weise beglaubigt würde, so suchte ich zu erforschen, ehe ich mit der Untersuchung des aus Fucus erhaltenen Inhaltsstoffes weiter fortfuhr, ob nicht auch ähnliche schleimartige Auszüge aus anderen Pflanzen mit dem Reagens eine derartige Rotfärbung ergeben würden. Zu diesem Zweck untersuchte ich den Schleim von Carrageen, Agar-Agar, Lichen islandicus, Radix Althaeae, Tubera Salep, Semen Lini, Semen Cydoniae, Astragalus, Agapanthus u. a. m. Ich fand, daſs der Schleim niemals charakteristisch

reagierte, obwohl sich das Perisperm bei Semen Lini und Cydoniae sehr intensiv färbte. Diese Schleime sind ja aber Produkte, die für den Aufbau der Pflanze wohl keine Bedeutung haben, da sie gallertartige Membranschichten darstellen und ihnen nach G. Klebs vor allem die Aufgabe zufällt, die Samen im Boden zu befestigen. Anders wurde es aber, als ich ähnliche Gallertschichten, nämlich die sogenanntes Schleimendosperm führenden Leguminosen-Samen heranzog, welche diese Produkte als Reservestoffe anlegen. Hier fand ich alsbald ein ausgiebiges Material, welches gut reagierte. Der Unterschied, welcher die Reaktion verschieden auftreten liefs, liegt sicher darin begründet, dafs die gewöhnlichen Schleimstoffe nur ein reines Kohlenhydrat darstellen, während ähnliche Reservestoffe die Stickstoffprobe zeigen, also eiweifsartige Körper zu sein scheinen. Als ich demgemäfs Samen mit ausgesprochenem Eiweifsgehalt, wie z. B. der Leguminosen und Gramineen, heranzog, zeigten sie die ausgiebigste Reaktion.

Da nun auch mein Extrakt die Lassaigne'sche Stickstoffprobe (Berlinerblau-Reaktion) ergeben hatte, und ich ihn bei seiner colloidalen Beschaffenheit deshalb für einen eiweifsartigen Körper hielt, so nahm ich als weitere Vergleichs- und Versuchsobjekte direkte Eiweifssubstanzen. Dieses Gebiet ist nun ein recht schwieriges, denn es

liegt ja leider chemisch noch vollständig im Dunkeln, wie wir uns das hochmolekulare Eiweifsmolekül zusammengesetzt zu denken haben. Ja wir wissen sogar auch noch nicht einmal genau, ob wir bei verschiedenen pflanzlichen Produkten bestimmt Eiweifs als vorhanden annehmen und deshalb als Versuchsobjekte heranziehen können. Wenn Strafsburger z. B. sagt, dafs »die Gesammtmasse des Protoplasmas stets Eiweifsreaktion giebt, und beim Verbrennen Ammoniakdämpfe entweichen«, weshalb sich also doch eigentlich — wie es auch meistens der Fall ist — die eiweifsartige Natur schwer leugnen läfst, so wenden sich andere, unter ihnen auch Crato, ausdrücklich gegen solche Annahme, er widerspricht auch demgemäfs den von Strafsburger angegebenen Reaktionen, sich dabei noch besonders gegen einzelne Forscher wendend mit dem Satz: „Ich betrachte die Angaben von Reichl und Mikosch (als auch ähnliche Angaben anderer Forscher) mit Mifstrauen und kann mich nicht Aussprüchen anschliefsen wie: »Mit Bestimmtheit weifs man, dafs alle Protoplasmen die gewöhnlichen Eiweifsreaktionen zeigen«.“ Ferner: „Der umfangreichen Arbeit von Frank Schwarz „Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas“ vermag ich nicht zuzustimmen“ etc.

Diese Andeutungen sollen dazu dienen, um zu zeigen, wie wenig positive Grundlage wir gerade bei den stickstoffhaltigen Körpern haben, und wenn wir selbst beim Eintreffen verschiedener Reaktionen noch die Natur des Körpers[1] anzweifeln können, wie unmöglich es dann fast scheinen mufs, auf Grund einiger Reaktionen die Zusammensetzung der vorliegenden Stoffe analysenartig näher zu definieren. Auch das so geschätzte Millon'sche Reagens zeigt nur diejenigen Eiweifsstoffe an, welche bei der Zersetzung Tyrosin geben, aus welchem Grunde unter anderen auch das dem Fibroin in der Zusammensetzung nahestehende Spongin nicht wie jenes reagiert. Ähnlich wie bei anderen Reagentien zeigen sich nun auch bei den Farbkondensationen durch Vanillin oder andere Aldehyde die einzelnen Eiweifsstoffe in der Reaktion verschieden. Man mufs dabei noch äufserlich berücksichtigen, dafs die Reaktion überhaupt am leichtesten eintritt, wenn möglichst wenig Wasser zugegen ist. Hat man minimale Mengen in Lösung, so empfiehlt es sich deshalb, dieselbe in einer Porzellanschale oder auf der inneren Seite eines Porzellantiegels

[1] Analog meinen Ergebnissen habe ich mich bei diesem Teil der Untersuchung auf die Seite von Strafsburger, Schwarz, Reichl und Mikosch u. a. m. stellen müssen und demgemäfs die Ergebnisse ihrer Arbeiten zu Hülfe ziehen können.

verdunsten zu lassen und dann das unverdünnte Reagens zuzusetzen. Auf dem weifsen Untergrund sieht man dann gleich genau das Farbenspiel, und es gelingt so unschwer, auch mit sehr verdünnten Auszügen noch scharfe und charakteristische Reaktionen zu erhalten. Aus gleichen Motiven wird ja auch eine möglichst starke Salzsäure neben Vanillin angewendet; später genügt der Zusatz von oft nur einigen Tropfen Wasser, um die auch intensive Rotfärbung, welche so selbst minimale Mengen hervorrufen, sofort zum Verschwinden zu bringen. Wegen dieser Thatsache wählte ich zunächst einen Eiweifskörper, welcher als gewöhnlichster Repräsentant gerade auch im trockenen Zustande sehr leicht zu beschaffen ist, nämlich das in jeder Apotheke erhältliche Albumen Ovi siccum. Als ich nun dem etwas gepulverten Hühnereiweifs von der Vanillin-Salzsäure zusetzte, erhielt ich eine Reaktion, die mir im Verhältnis zu dem geeigneten Material zu schwach dünkte. Ich besann mich aber, dafs auch Crato ähnliches an den kleinsten Physoden bemerkte: „Mit Vanillin-Salzsäure werden die Physoden rot. Auf nachträglichen Zusatz von Schwefelsäure tritt eine sehr intensive Färbung auch der kleinsten Physoden auf.“

Als ich dementsprechend nun dem Albumin noch ein Tröpfchen Schwefelsäure zusetzte, erhielt ich sofort die charakteristische Färbung höchst

intensiv mit gleicher Nüance wie bei Fucusextrakt. Da ich noch nicht die wahre Bedeutung der Schwefelsäure bei der Reaktion erkannte, glaubte ich, dafs vielleicht nur eine Spaltung des Eiweifsmoleküls nötig sei, hier durch die Schwefelsäure bewirkt, um ein Produkt zu ergeben, das sich sofort mit Vanillin-Salzsäure intensiv färbte. Zu diesem Versuch wurde Eiweifs mit 2 % schwefelsäurehaltigem Wasser mehrere Tage maceriert und dann dialysiert, aber als alle Schwefelsäure entfernt war, zeigte das Eiweifs doch nicht allein mit Vanillin-Salzsäure die Reaktion sehr ausgiebig, sondern es bedurfte immer erst wieder von neuem eines Tropfens Schwefelsäure zur intensiven Färbung. Es ist dies nun ein zwar nicht ausgesprochener, aber von anderer Seite doch nahegelegter Beweis, dafs manchmal die Salzsäure, wenn sie nicht schwach rauchend ist, ein zu schwaches Farbkondensationsmittel ist, und dafs also aus diesem Grunde Schwefelsäure bei der Reaktion zugegen sein mufste, um eine intensive Färbung zu erzielen. Wahrscheinlich wirkt die Schwefelsäure in der Hauptsache dabei wasserentziehend, denn mit besseren Oxydationsmitteln lassen sich auch nur weniger starke Farbtöne erzielen.

Auch das Aufsenmedium bei der Dialyse zeigte nach dem Einengen keinen irgendwie reaktionsfähigen Rückstand.

Die Eiweifsstoffe werden nun in den Lehrbüchern[1] im allgemeinen eingeteilt in Albumine, Fibrine und Kaseïne. Als ich nun analog dieser Einteilung von E. Merck als purissimum bezogene Pflanzeneiweifsstoffe untersuchte, fand ich, dafs Albumin und Legumin schon direkt die charakteristische Färbung gaben, die bei zugesetzter Schwefelsäure äufserst intensiv wurde. Dagegen zeigte das Pflanzenfibrin und Kaseïn keine Färbung und auch nach Zusatz von Schwefelsäure war dieselbe so blafs, dafs sich diese Substanzen sicher nicht an der Färbung im Pflanzenkörper beteiligen werden und sogar schwerlich durch die Reaktion zu erkennen wären. Die gleichen Eiweifsstoffe, aus Blut hergestellt, verhielten sich analog. Als weiteres Material dienten mir darauf noch die Objekte, an welchen Pfeffer[2] seine Untersuchungen über geformte Eiweifskörper gemacht hat, und auch hier fand ich bestätigt, dafs sich diese mit den Reagentien färbten. Interessant war mir dabei, dafs Pfeffer eine falsche Beobachtung von Sachs und Gris über die Löslichkeit der Körper in Äther berichtigen mufste, wie ich Ähnliches bei Fucus ebenfalls oben zu thun hatte. Auch tierische Faser, Wolle und Seide

[1] Cf. z. B. v. Richter, Organische Chemie, Aufl. VI, S. 1100.

[2] Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 8, S. 429.

liefs sich mit der Reaktion färben, dagegen Baumwolle nicht.

Fragen wir nun, welche Atomgruppe im Eiweifsmolekül wohl die Reaktion veranlassen könnte, so geben frühere Untersuchungen genug Fingerzeige. Das Eiweifsmolekül zerfällt bei der Spaltung in die verschiedensten aliphatischen oder aromatischen Körper. Bei ersteren wurde niemals ein reaktionsfähiger Abkömmling gefunden, weder bei den niederen Gliedern der Fettsäuren oder den Aldehyden, noch bei Bernsteinsäure, Asparagin, Leucin, Inosit etc. Auch bei anderen Verbindungen, die nicht gerade Spaltungsprodukte des Eiweifs sind, wurde vergeblich eine Reaktion versucht. Von den aromatischen Spaltungsprodukten des Eiweifs reagiert zwar, wie Baeyer fand, die der Phenolgruppe, jedoch haben dieselben keine Ähnlichkeit mit dem hier erhaltenen blauvioletten Farbstoff, auch mit Benzoësäure, Salicylsäure, Phenylessigsäure und Tyrosin war keine Färbung zu erhalten. Es bleibt nur noch die Indolgruppe übrig und diese scheint auch das reagierende Prinzip zu enthalten. Denn sowohl Indol als Skatol, von E. Merck bezogen, zeigten die intensivsten Farbtöne in gleicher Nuance. Auch die Fichtenspahnreaktion geben diese Körper gut[1], wie sie natürlich auch der Fucus-

[1] cf. Niggel, Holzreaktionen, Flora 1881 S. 545.

extrakt zeigte, da für diese Reaktion ja nach Singer[1] im Holz dieselben Prämissen gegeben sind. Obgleich nun die Eiweifsstoffe bei der Zersetzung Indol geben, so kann man doch niemals dasselbe daraus nach Baumann[2] gewinnen, wenn sie vorher mit verdünnter Schwefelsäure gekocht waren, da hierdurch der fragliche Atomkomplex der Eiweifskörper zerstört wird, was die gleich beobachteten Vorgänge bei der Hydrolyse (s. unten) erklärt und die Vermutung über das Zustandekommen der Reaktion bestätigt. Diese Möglichkeit einer solchen Bildung des Farbstoffes wird höchst wahrscheinlich gemacht durch die Untersuchungen von E. Fischer[3] über die Kondensationen der Indolderivate. Über das Reaktionsprodukt von Benzaldehyd mit Methylindol schreibt er: „Erwärmt man die Lösung in Eisessig mit Eisenchlorid, so bildet sich ein schön roter Farbstoff." In gleicher Weise lassen sich, wahrscheinlich durch Austausch des Wasserstoffes der Methingruppe, eine grofse Anzahl Derivate in analoger Weise herstellen, so erhielt Fischer aus dem Methylketol einen Rosindolfarbstoff.

[1] Sitzungsberichte der Wiener Akademie der Wissenschaften, Jahrgang 1882 Bd. 85 I S. 345. Max Singer: Beiträge zur näheren Kenntnis der Holzsubstanz und der verholzten Gewebe.

[2] Ber. d. deutsch. chem. Ges. Jahrj. 13 S. 284.

[3] Annalen d. Chem. u. Pharm. Bd. 236 u. Bd. 242 S. 372.

Ferner berichtet v. Pechmann[1], dafs die von ihm durch ähnlichen Kondensations-Vorgang hergestellten Farbbasen fast farblos waren, aber durch Salzsäure prächtig blau, durch Schwefelsäure rotgelb gefärbt wurden, welche Farbe durch Auswaschen der Säure mit Wasser wieder verschwand.

Aus allen diesen Reaktionsvorgängen geht nun aber unfehlbar hervor, dafs eine Farbkondensation durch Aldehyde mit den verschiedensten Stoffen nicht nur möglich erscheint, sondern auch häufig geschieht. Aus diesem Grunde kann keineswegs, wie von einzelnen Forschern angenommen, bei einer so eintretenden Färbung auf das bestimmte, wie durch eine Identitätsreaktion nachweisbare Vorhandensein von Phloroglucin geschlossen werden. Wenn nun aber auch die Reaktion in diesem Sinne keine besondere Bedeutung hat und vielleicht nur durch Umkehrung der Holz- resp. Vanillinreaktion entstanden ist[2], so will ich noch bemerken, dafs letztere noch immer vollständig exakt erscheinen mufs, denn hier suchen wir ja das Kondensationsmittel, den Aldehyd, von welchem bislang noch nicht nach-

[1] Ber. d. deutsch. chem. Ges. Jahrg. 14 S. 1860.

[2] Auch die andere der möglichen Umkehrungen, nämlich der Nachweis freier Salzsäure im Mageninhalte mittels Phloroglucin-Vanillin, ist schon versucht worden. Doch wird man auch so nie auf eine bestimmte, sondern nur auf freie Säure überhaupt prüfen können.

gewiesen wurde, dafs er durch ähnlich wirkende Körper, die ebenfalls im Pflanzenreich gefunden sind, ersetzt werden könnte. Natürlich sehe ich hierbei von Pflanzenstoffen ab, die Vanillin oder einen anderen Aldehyd enthalten, wie Benzoë, Perubalsam, Tolubalsam, Styrax, Ol. caryophyllorum etc. Zwar erwähnt Etti[1] auch eine ähnliche Kondensationssynthese, aber die in Vergleich gezogene Phtalsäure gab hier weder ähnliche Färbungen, noch kommt sie in der Pflanze vor. A. Baeyer[2] hat nämlich für die Einwirkung von Aldehyden auf Phenole bei Gegenwart wasserentziehender Mittel folgende Gleichung als allgemein gültig aufgestellt:

$$CH_3CHO + 2(C_6H_5OH) = CH_3CH(C_6H_4OH)_2 + H_2O.$$

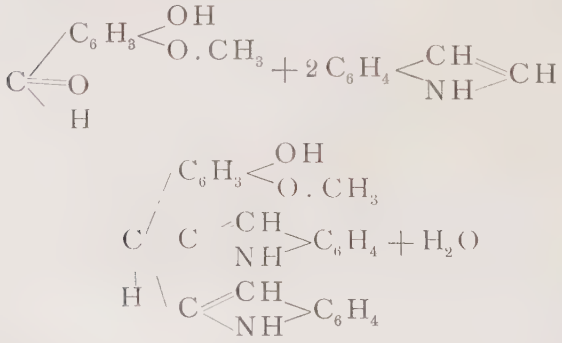
Baeyer kommt nun zu dem Schlufs, dafs in solcher Weise entstandene Verbindungen als eine dem Phenolphtaleïn analoge zu betrachten sei, da in dem Phtalsäureanhydrid bei seiner Einwirkung auf Phenole der Sauerstoff der einen von zwei in Orthostellung befindlichen $-C(=O)-$ Gruppen die nämliche Rolle spiele, wie der eines Aldehyds. Ist nun der in Reaktion tretende Aldehyd

[1] Sitzungsberichte d. Wiener Akad., Jahrg. 1882, Bd. 86, II. C. Etti: Über Verbindungen des Vanillins mit Pyrogallol und Phloroglucin.

[2] Berichte d. deutsch. chem. Ges. V. S. 1096.

ein aromatischer, so bildet sich analog der Reaktion ein Derivat des Triphenylmethans, jedoch ohne wie die Phenolphtaleïne einen Karboxylrest zu enthalten. So wird die Diamidotriphenylmethangruppe in der Farbtechnik durch die Einwirkung von starker Salzsäure auf ein aromatisches Aldehyd und einen aromatischen Körper hergestellt. Es mufs hierbei Jedem auffallen, dafs als innere Komponenten dieselben Faktoren gegeben sind, und es ist charakteristisch, dafs auch der so entstehende Farbstoff ebenso blauviolett aussieht und gleich unbeständig ist.

Denken wir uns nun also, wie oben als wahrscheinlich gezeigt, dafs die Reaktion zwischen einer Indol- oder Skatolgruppe mit Vanillin zustande kommt, so können wir uns auch analog der Baeyer'schen Hypothese die Reaktion so vergegenwärtigen:



Methoxyliertes, monohydroxyliertes, biindolisiertes Triphenylmethan.

Die nächste Aufgabe war nun, zu untersuchen, zu welcher Art Körpern der von mir isolierte und die Reaktion mit Vanillin-Salzsäure gebende colloidale Pflanzenstoff gehöre. Das zunächst liegende war, den Hinweis, der durch die Lassaigne'sche Stickstoffprobe gegeben war, weiter zu verfolgen, da sich so das Eintreten der fraglichen Reaktion, wie oben, erklären würde. Es wurde nun ein Teil des dialysierten Schleimes zur Trockne gedunstet und der Rückstand mit Natronkalk geglüht; auch hierbei trat Ammoniak als Zersetzungsprodukt auf. Dafs dasselbe nicht aus etwa unvollständig dialysierten Ammonsalzen stammen konnte, wurde dadurch eruiert, dafs die Flüssigkeit, mit Natronlauge ammoniakalisch gemacht, beim Erwärmen weder an einem mit Salzsäure befeuchteten Glasstabe Nebel erzeugte, noch Curcumapapier bräunte. — Wenn man ferner den gewonnenen Rückstand im Glührröhrchen für sich erhitzte, so traten ebenfalls ammoniakalisch reagierende Dämpfe auf. Diese Reaktionen bestätigten, dafs eine stickstoffhaltige, also wahrscheinlich eiweifsartige Verbindung vorlag. Es wurde nun zunächst mit Millon'schem Reagens geprüft. Dasselbe war so dargestellt, dafs ein Gewichtsteil Quecksilber im gleichen Gewichtsteil konzentrierter Salpetersäure ohne Erwärmung und sogar unter Abkühlung bei zu stürmischer Einwirkung gelöst war und hierauf

mit zwei Gewichtsteilen Wasser verdünnt wurde, wobei sich Alles ohne Rückstand löste. Die meisten Vorschriften, wie die von Strafsburger, Zimmermann etc. enthalten viel mehr, meistens das Doppelte der obigen Säuremenge, was entschieden sehr unvorteilhaft ist und ein Übersehen der eingetretenen Reaktion möglich macht, da eine zu grofse Nitrierung stattfindet, wie man sich leicht überzeugen kann, wenn man der zu untersuchenden Probe mehr als einige Tropfen zusetzt, was bei dem Reagens ratsam ist. Denn da das Millon'sche Reagens Benzolderivate mit einer einfachen oder substituierten, direkt an den aromatischen Kern geknüpften Hydroxylgruppe anzeigt[1], so hat man z. B. in der Salicylsäure ein bequemes Mittel, die Wirksamkeit des Reagens zu prüfen. Man wird nun finden, dafs die stärker säurehaltigen Reagentien eine auch bei Spuren entstandene Rotfärbung beim Erwärmen durch zu starke Nitrierung schnell verblassen lassen, während sonst die Intensität der Färbung dabei noch zunimmt, und man wird aus diesem Grunde wohl nie eine wirklich schöne Rotfärbung selbst bei in mäfsiger Menge vorhandenen Eiweifskörpern erhalten. Während ich nun mit dem, wie angegeben, hergestellten Reagens die schönste Rot-

[1] O. Nasse: Ber. ü. d. Sitzung der Naturforscher-Ges. zu Halle v. 31. III. 1879.

färbung bei Flüssigkeiten mit nur minimalem Eiweifsgehalt erhielt, ergab mein schleimiger Auszug nichts. Bei einer anderen Probe meines Extraktes trat nach Ansäuren mit Essigsäure durch Ferrocyankalium keine Fällung ein, ebenso blieb er klar beim Zusatz von Salicylsulfonsäure, auch die Moore-Heller'sche Acidalalbuminprobe trat nicht ein. Es sind dies aber die zur Zeit als empfindlichste Eiweifsproben bekannten, und mufste das Ausbleiben der Reaktion bei sämtlichen Proben die gänzliche Abwesenheit von Eiweifs zur Evidenz beweisen, da einzelne der Reagentien noch 0,00001 Albumin in Lösung erkennen lassen. Dafs beim Erhitzen auf 100° keine Koagulation eintrat und die Biuretreaktion ebenfalls ausblieb, vervollständigte diese Ergebnisse. Um geringe Mengen Eiweifs konnte es sich aufserdem nicht handeln, da mein Extrakt eine syrupartige, dicke Flüssigkeit darstellte, in welcher die colloidale Substanz vollständig gelöst war, so dafs sie nicht abfiltriert werden konnte, wie das bei manchen Pflanzenschleimen der Fall ist, die nur im Wasser bis zur anscheinenden Lösung aufquellen. Dafs mein vorliegender Stoff ein gummiartiger Körper sei, wurde widerlegt durch die ammoniakalische Reaktion der Dämpfe, die beim Erhitzen der Substanz allein im Glührörchen auftraten, denn die Gummiarten stofsen hierbei sauer reagierende

Dämpfe aus. Die vielleicht in Frage kommenden Körper von ähnlichen physikalischen Eigenschaften, wie Triticin, Laevulin, Dextrin, Sinistrin schieden auch deshalb noch aus der Erwägung aus, weil ihr Verhalten zu Alkohol sich anders charakterisiert und sie vor allem von basischem Bleiacetat nicht gefällt werden, meine reagierende Substanz wurde dagegen sowohl von neutralem als basischem Bleiacetat vollständig in käsiger Form gefällt.

Folgende Reaktion gab mir nun einen ungefähren Aufschlufs, welche Art Stoffe ich zu vermuten hatte, und möchte ich die ungemein bequeme Anstellung derselben bei Untersuchungen derartiger Fälle für Orientierungszwecke warm empfehlen. Ich stellte dieselbe folgendermafsen an. Nachdem ich meine Substanz mit frisch bereiteter Fehling'scher Lösung aufgekocht hatte, ohne Reduktion zu erhalten, liefs ich am Rande des Becherglases einen Tropfen konzentrierte Schwefelsäure herablaufen; sofort trat eine deutliche Reduktion ein. Dies wird natürlich dadurch bewirkt, dafs die starke Säure an der Berührungsstelle mit der zu untersuchenden heifsen Flüssigkeit die vorhandene polysaccharidähnliche Substanz spaltet und die im Überschufs vorhandene alkalische Kupferlösung nun sofort von dem abgespaltenen Zucker reduziert wird. Dafs ein Tropfen Schwefel-

säure in polysaccharidfreier Fehling'scher Lösung keine Veränderung hervorruft, kann man sich leicht durch Versuch überzeugen. Man hätte nun aber auch denken können, dafs wir es mit einem Glykosid zu thun hätten, aber wenn auch die Bildungsverhältnisse von Zucker darauf deuteten, so widersprach diesem doch die Thatsache, dafs der Stoff sowohl durch Ätherweingeist, als auch durch kalten absoluten Alkohol ausgefällt wird. Für die weitere Bestimmung des Polysaccharids wurden nun 600 g dialysierten Extrakts mit 18 g konzentrierter Schwefelsäure versetzt und am Rückflufskühler mehrere Stunden digeriert, hierbei wurden von Zeit zu Zeit 100 g abgehoben, um eine Rückwärtsinvertierung zu vermeiden. Die Spaltungsprodukte, welche bei der Hydrolyse neben Glykose frei werden, sind bekanntlich fast immer in Wasser schwer löslich, und trübt sich deshalb die Flüssigkeit in dem Mafse, wie sie beim Kochen mit säurehaltigem Wasser entstehen. Die kleinen braunen Flocken, welche sich abgeschieden hatten, wurden abfiltriert, und da sie weder mit Fehling'scher Lösung noch mit Vanillin-Salzsäure direkt oder nach Schmelzen mit Alkalien reagierten, nur noch auf Stickstoff untersucht. Letzterer wurde nach drei Methoden gefunden, also zur Evidenz bewiesen. Die hydrolysierte Flüssigkeit war jetzt

vollständig klar, weingelb, gänzlich schleimlos und zeigte die Reaktion mit Vanillin - Salzsäure nicht mehr. Die verwandte Schwefelsäure wurde mit ca. 35 g Baryumcarbonat neutralisiert und abfiltriert. Der Filterrückstand wurde nochmals mit Wasser in ein Glas gespült und mit Kohlensäure gesättigt, um etwa gebildete Saccharate zu zerlegen, schliefslich beide Filtrate vereinigt und eingeengt. Es wurde gerade Schwefelsäure zur Hydrolyse genommen, weil sie durch Baryumcarbonat leicht quantitativ entfernt werden kann und das etwa überschüssige Baryumcarbonat wieder mit abfiltriert wird. Aus letzterem Grunde ist auch als Abstumpfungsmittel das öfter empfohlene Baryumhydroxyd weniger praktisch, da ein Überschufs in Lösung geht. Es ist aber hierbei nötig, sehr gut dialysierten Extrakt zu verwenden, da sich sonst durch Umsetzung der vorhandenen Chloride immer Salzsäure bildet, welche sehr störend wird. — Nachdem der hydrolysierte Auszug so vorbereitet war, wurde er mit genau eingestellter Fehling'scher Lösung titriert. Während nun das Polysaccharid vor der Hydrolyse Fehling'sche Lösung garnicht reduziert hatte, und auch das vorhandene Alkali bei längerem Kochen aus 125 ccm Extrakt noch nicht so viel Zucker abspalten konnte, dafs 20 ccm Fehling'sche Lösung reduziert waren, so

wurden 20 ccm Fehling'sche Lösung von 33,2 ccm des gleichen aber hydrolysierten Auszuges vollständig reduziert. Wenn man nun bedenkt, dafs diese ca. 0,3 % Glykose hervorgerufen war von einer hydrolytischen Spaltung, welche aber nach früheren Forschungen höchstens eine Ausbeute von 60 % eines vorliegenden Polysaccharids giebt, und dafs letzteres nur in 1,18 g enthalten sein konnte, welche Menge beim Verdunsten aus 100 g Flüssigkeit den Trockenrückstand bildete, so war immerhin ein guter Prozentsatz Zucker abgespalten worden.

Um nun zu eruieren, welche Art Zucker der vorliegende Extrakt enthielte, wurde der nicht hydrolysierte Extrakt nach der Böttger'schen Wismutprobe untersucht, ferner mit einer Lösung von essigsaurem Kupferoxyd und Natriumbikarbonat gekocht; beide Reaktionen verliefen resultatlos, dagegen trat mit dem hydrolysierten Extrakt sofort eine Dunkelfärbung beziehungsweise Reduktion ein. Da sich nun die Reduktion der Fehling'schen Lösung in ähnlichem Sinne gezeigt hatte, obwohl hier durch das vorhandene starke Alkali bei längerem Kochen eine geringe Spaltung vor sich geht, so war es erwiesen, dafs die vorhandene Zuckerart keine Glykose, sondern in ähnlicher Form wie Saccharose vorhanden war, welche erst, um zu reduzieren, invertiert werden

mufste. Auf den ersten Blick konnte hiermit im Widerspruch stehen, dafs der nicht hydrolysierte Extrakt schon im Saccharimeterkolben Gährung zeigte; aber obwohl mit gewöhnlicher Hefe zunächst nur Traubenzucker zur Gährung gelangen kann, kommt sie hier dadurch zustande, dafs die vegetierende Hefe bekanntlich Invertin abscheidet, welches nun seinerseits wieder Saccharosen in Glykosen verwandelt und so auch diese, aber nur indirekt, vergährungsfähig erscheinen läfst. Ja, ich bemerkte, als ich einmal eine gröfsere Menge Extrakt mit destilliertem Wasser aus frischem, zerkleinertem Fucus durch längere Maceration hergestellt hatte, dafs sich die reichlich in der grossen Flasche gebildete Kohlensäure explosionsartig Ausgang verschaffte, und ich mit der reichlich vorhandenen Kohlensäure die verschiedensten chemischen Reaktionen anstellen konnte, aber natürlich dementsprechend viel weniger Kohlenhydrate fand. Ich möchte deshalb empfehlen, wenn man frischen Fucus ausziehen will, welche Methode am besten gewährleistet, dafs man die Inhaltsstoffe intakt und nicht verändert in Lösung bekommt, einfach der schnell verlesenen und zerkleinerten Masse auf je ein Kilo 410 g starken Alkohol zuzusetzen, denn da dieser meistens 94 Gewichtsprozente enthält und die Trockensubstanz bei meinem verarbeiteten Fucusmaterial ca. 12,5%

ausmachte, so wird man eine Extraktionsflüssigkeit von ziemlich genau 30% Alkokol haben. Diese wird also nicht mehr gährungsfähig sein und demnach auch kein Verlust an Kohlenhydraten schon beim Ausziehen eintreten, dagegen das Polysaccharid sich zu einer schleimigen Flüssigkeit lösen und unschwer filtrieren lassen.

Mit diesem meinem Fund, dafs nämlich als Inhaltsstoff ein schleimartiges Polysaccharid vorhanden ist, darf nicht ein Fund von Günther[1] und Tollens verwechselt werden. Günther hat zwar auch eine Zuckerart aus Fucus hergestellt, aber dieser Zucker ist nicht präformierter Inhaltsstoff der Pflanze, sondern als ein Umwandlungsprodukt erst künstlich gebildet worden. Der Bericht darüber lautet: „Ein Kilo Fucus von Helgoland wurde zuerst durch zweitägige kalte Digestion mit vierprozentiger Salzsäure und Auswaschen mit Wasser von löslichen Stoffen möglichst befreit und darauf mit dreiprozentiger Schwefelsäure zwölf Stunden in einem in kochendem Wasserbade stehenden Steintopfe erhitzt. Die durch Abpressen erhaltene hellgelbe Flüssigkeit wurde mit Baryumcarbonat entsäuert und nach dem Filtrieren im Wasserbade auf 1/8 des Volumens eingeengt“ etc.

[1] Annalen der Chemie u. Pharmacie Bd. 271 S. 86. Inaug.-Dissert. von A. Günther, Göttingen.

Die löslichen Inhaltsstoffe waren also »möglichst« entfernt und wie nun z. B. durch mehrstündiges Kochen mit 2 %iger Schwefelsäure aus Hafer-[1] oder Weizenstroh der Holzzucker entsteht, so haben Günther und Tollens statt dessen die Fucuspflanze als Ausgangsmaterial gewählt und einen dem Holzzucker homologen Zucker erhalten, den sie Fucose genannt haben. Da nun dieser Zucker lediglich ein Umwandlungsprodukt ist, so hat er, als nicht direkt in der Pflanze vorkommend, wenig botanisches Interesse gefunden. Solche Produkte entstehen ja durch starke Agentien naturgemäfs aus allem cellulosehaltigen Material, denn Cellulose ist doch chemisch nichts anderes, als ein Kohlenhydrat von der Formel $(C_6H_{10}O_5)x$, das sich bei der Einwirkung der Säure spaltet, wobei meistens Wasser aufgenommen wird.

Der Wert einer solchen Untersuchung in Bezug auf vorhandene Inhaltsstoffe ist schon durch diese kurze Andeutung gekennzeichnet. Es handelt sich also bei der Fucose keineswegs um einen Stoff, welcher in der lebenden Pflanze enthalten ist, oder dem gar die Bedeutung eines Assimilationsproduktes beigelegt werden könnte. Von einem ganz anderen Gesichtspunkt sind meine Funde zu beurteilen: ich nahm ein in-

[1] Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 271. S. 40. Schulze: Über Xylose und ihre Drehungserscheinungen.

differentes Extraktionsmittel, wandte keine Wärme an und erhielt also einen Auszug von Stoffen, die wirklich als Inhaltsstoffe vorhanden gewesen waren und nicht erst durch scharfe Agentien gebildet wurden. Dann untersuchte ich diesen Auszug und nicht, wie Günther, den mehr oder weniger Cellulose darstellenden Rückstand. In logischer Folge konnte ich deshalb beim zweiten Auszuge des getrockneten und gemahlenen Fucusmaterials schon in oberflächlicher Weise erkennen, dafs der Auszug viel weniger inhaltsreich war. Beim Abdampfen zur Trockne erhielt ich auch folgende sehr verschiedene Zahlen:

I. Auszug 1,18 } Prozent
II. „ 0,326 } Trockenrückstand.

Spätere Auszüge gaben nicht mehr nennenswerte Resultate, diese zeigten die Reaktion mit Vanillin-Salzsäure überhaupt nicht mehr, wie auch die Rückstände selbst nicht mehr reagierten. Bei der Herstellung des Auszuges nach der von Günther angewandten Methode dagegen wird man sicherlich nicht das Material in diesem Sinne erschöpfen können, vielmehr immer neue Mengen eines kohlenhydrathaltigen Auszuges durch stetige Neubildung erhalten, bis alle Cellulosesubstanz in Zucker umgewandelt worden ist. Aus diesen Gründen denke ich auch nicht daran, eine solche Gewinnung eines zuckerartigen Stoffes als Beleg

oder gar Beweis für meinen Fund, weil an demselben Objekt gemacht, heranziehen zu wollen, ich möchte jenen Fund, so wenig botanisches Interesse er gefunden, nur an dieser Stelle, um Irrtümern zu begegnen, hiermit genügend beleuchtet haben.

Waage schreibt nun ferner wiederholt in seiner oben erwähnten Arbeit: „Bekanntlich reduziert Phloroglucin alkalische Kupferlösung“ Eine solche Bemerkung soll die Meinung erregen, die Waage ihr auch noch ausdrücklich beizulegen versucht, dafs der bei vielen Glykosiden durch hydrolytische Spaltung gefundene Zucker kein Zucker sei, sondern Phloroglucin, welches die Reduktion der Fehling'schen Lösung bewirkt habe. Es ist nun allerdings Thatsache, dafs die mehrwertigen Phenole leicht oxydiert werden, und zwar ist diese Eigenschaft am schärfsten ausgeprägt, wenn die Hydroxylgruppen vicinal stehen. Aus diesem Grunde ist Brenzcatechin ein gutes und Pyrogallol ein sehr starkes Reduktionsmittel. Das Phloroglucin ist aber nun das einzige dreiwertige Phenol, welches keine einzige vicinale Hydroxylgruppe enthält, infolgedessen ist auch seine Reduzierfähigkeit keine grofse und die »Reduzierung der Fehling'schen Lösung« wird bei den in solchen Versuchen gering vorhandenen Mengen von Phloroglucin kaum jemals einen

Irrtum bezw. eine Verwechslung hervorrufen können, viel eher ist es wahrscheinlich, dafs sie überhaupt übersehen werden könnte. Trotzdem wollte ich jeden Zweifel beseitigen, dafs bei der Spaltung meines Polysaccharids wirklich Zucker und nicht Phloroglucin gebildet würde. Letzteres hätte sich übrigens schon in der Reaktion mit Vanillin-Salzsäure kundgeben müssen, aber diese Reaktion blieb, wie gesagt, aus. Nun ist ferner Phloroglucin vermöge seiner Desmotropie imstande, aus der gewöhnlichen tertiären in die Pseudoform überzugehen und die Atomgruppierung eines Triketohexamethylens anzunehmen. Als solches vermag es zwar mit Hydroxylamin ein Trioxim zu bilden, aber es ist trotz dieser isodynamischen Umlagerung nicht imstande — und das ist die specifische Eigentümlichkeit des Phloroglucins — mit Phenylhydrazin ein Hydrazon zu bilden. Es ist uns also in der charakteristischsten und, da auf die Konstitution Bezug nehmend, wissenschaftlichsten Reaktion der Zuckerarten, sich mit zwei Molekülen Phenylhydrazin zu verbinden und das Osazon zu bilden, nicht nur der unumstöfsliche Beweis für das Vorhandensein einer Zuckerart geliefert, welche man ja erst durch diese Reaktion zu unterscheiden vermocht hat, sondern es ist gleichzeitig hierdurch zu zeigen, dafs nicht Phloroglucin das die Fehling'sche

Lösung reduzierende Agens war. Für diese Reaktion wurden jedesmal 10 ccm der hydrolysierten Flüssigkeit mit 10 ccm einer Normal-Kalilauge versetzt und mit 3 Tropfen Phenylhydrazin gut gemischt. Darauf wurde bis zum kräftigen Sieden erhitzt, wobei die Flüssigkeit die orangegelbe Färbung der Glukosazone annahm. Als hierauf mit Essigsäure übersättigt wurde, trübte sich die Flüssigkeit durch eine sich sofort bildende, fein verteilte, gelbe Fällung des abgeschiedenen Osazons bis zur Undurchsichtigkeit.

Auch die von Molisch angegebene Reaktion mit α-Naphtol und Schwefelsäure war in diesem Falle sehr geeignet, da sie nicht wie die meisten Zuckerreaktionen auf Reduktion beruht, sondern auf Bildung von Furfurol und hierbei noch ein Gehalt von 0,00001 g Zucker bequem nachzuweisen ist. Phloroglucin giebt dieselbe nicht, dagegen trat sie bei dem Extrakt selbst bei grosser Verdünnung ausserordentlich stark ein.

Ebenso einwandsfrei war das Eintreten der Reaktion, welche auf der A. Baeyer'schen Indigosynthese beruht und bekanntlich auf Bildung dieses Körpers beim Erwärmen von o-Nitrophenylpropiolsäure mit Traubenzucker in alkalischer Lösung hinausläuft. Das Reagens stellte ich so dar, dafs ich 5,75 g Säure in 100 ccm Natronlauge von 10% löste und zu einem Liter

auffüllte. Für die Reaktion damit wurden 5 ccm des halbprozentigen Reagens mit 1 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit versetzt und die Mischung 1/4 Minute lang gekocht. Schon beim Gehalt von 0,0005 g Zucker trat eine scharfe Reaktion ein, während Phloroglucin dieselbe auch in zweiprozentiger Lösung überhaupt nicht gab, dagegen mein Extrakt dieselbe schon ohne Inversion zeigte. Es ist bei der Reaktion nicht nötig, Eiweifs bis zu zwei Prozent oder den Farbstoff vorher zu beseitigen, da die Gegenwart jener auf die Deutlichkeit der Reaktion keinen Einflufs hat und sie sich hierdurch also von der Furfurol- und Trommer'schen Reaktion auszeichnet. Ein gröfserer Gehalt an Eiweifsgehalt wäre durch Bleiessig zu koagulieren.

Um auch eine event. Circumpolarisation konstatieren zu können, wurde der Extrakt noch weiter eingeengt. Aber leider absorbierte er dann, trotz mehrmaliger Behandlung mit Bleiacetat, obwohl er nun wasserhell erschien, noch immer so viel Licht, dafs auch eine 100 mm lange Schicht erst nach Verdünnen mit gleichen Teilen Wasser vollständig scharfe Einstellung des Saccharimeters ermöglichte. Dieselbe drehte dann 1,6° links, was einer Drehung von 1,04 % l. Glykose oder für den unverdünnten Extrakt 2,08 % entspricht.

Derselbe geklärte Extrakt wurde dann noch mit Fehling'scher Lösung titriert. Zu diesem Zweck wurden 20 ccm desselben mit 80 ccm destilliertem Wasser verdünnt. Vorgelegt wurden mehrmals 20 ccm Fehling'sche Lösung, diese wurden jedesmal von 25 ccm des 1 : 5 verdünnten Extraktes vollständig reduziert. Als Indikator wurde Ferrocyankalium + Essigsäure verwendet. 20 ccm Fehlingsche Lösung entsprechen nun 0,1 g Glykose, diese Menge war enthalten in 25 ccm des verdünnten Extraktes, in hundert also 0,4 oder in dem unverdünnten Extrakt 2 %.

Wenn ich nun aber auch so ein Polysaccharid nachgewiesen hatte, so konnte dieses als Kohlenhydrat doch nicht den nach verschiedenen Methoden gefundenen Stickstoff und die Reaktion mit Vanillin-Salzsäure erklären. Die weiteren Untersuchungen waren deshalb hierauf gerichtet, und es wurde zu diesem Zweck von einem eingeengten Extrakt, der ca. 8 Tage lang dialysiert war, der Trockenrückstand bestimmt, er betrug 3,582 Prozent. Von diesem Extrakt wurden 25 g zur Kjeldahl'schen Stickstoffbestimmung genommen. Bei der Titration waren 12 ccm der vorgelegten $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure durch übergetriebenes Ammoniak gesättigt. Diese 12 ccm entsprechen 0,0168 g Stickstoff, in 100 g Extrakt waren demnach 0,0672 g Stickstoff oder als

Proteingehalt, ausgedrückt 0,42 g vorhanden, resp. enthielt die Trockensubstanz 11,73 % Eiweifs.

Ein anderer Teil dieses Extraktes wurde mit etwas Salpeter und Soda im Tiegel verbrannt und die weifse Schmelze mit Wasser aufgenommen. Die Flüssigkeit gab nach Kochen mit Salzsäure im Überschuss auf Zusatz von Baryumchlorid einen starken weifsen Niederschlag, der sich auch in starker Salzsäure nicht löste: die Substanz hatte also Schwefel enthalten.

Einem zweiten Teil der aufgelösten und mit Salzsäure gekochten Schmelze wurde Ammoniak im Überschufs und eine Lösung von schwefelsaurer Magnesia zugesetzt. Es trat keine Trübung ein, auch nach dem Reiben mit einem Glasstabe war nach zwei Tagen kein krystallinischer Niederschlag entstanden.

Der übrige Teil der Flüssigkeit wurde mit konzentrierter Salpetersäure und molybdänsaurem Ammonium versetzt und bis auf ca. 70° erwärmt, es entstand weder sofort, noch beim Stehen ein gelber Niederschlag von Ammoniummolybdophosphat, so dafs nach beiden Methoden Phosphorsäure nicht nachzuweisen war.

Da nun der Pflanzenstoff in seiner colloidalen Eigenschaft, ferner in dem eben besprochenen Gehalt an Stickstoff und Schwefel mit den Eiweifsstoffen übereinstimmt, letztere aber die für Phloroglucin erklärte Reaktion geben, so halte

ich es für erwiesen, dafs auch bei Fucus die Reaktion durch eine Stickstoffgruppe der Substanz bewirkt wird, denn in kurzer Wiederholung konnte nach Obigem ja kein Phloroglucin vorhanden sein:

1. Theoretisch: Man findet sonst stets Gerbsäure daneben, letztere fehlt hier vollständig.
2. Physikalisch und chemisch: Der bei Fucus die Reaktion mit Vanillin-Salzsäure gebende Stoff zeigt andere Eigenschaften:
   a) Er diffundiert nicht durch Membranen.
   b) Er geht nicht in die Lösungsmittel des Phloroglucins und ist nicht wie dieses sublimierbar.
   c) Er giebt die charakteristischen Reaktionen des Phloroglucins nicht.
   d) Die Reaktion mit Vanillin-Salzsäure verschwindet nach dem Kochen mit Säuren, was bei Phloroglucin nicht der Fall ist.
   e) Phloroglucin kann auch nicht als Atomkomplex vorhanden sein, da es durch die Hydrolyse verschwindet, statt hervorzutreten.

Die Ansicht von Waage, Bruns u. a. m., welche jede Rotfärbung mit Vanillin-Salzsäure als Phloroglucin erklären, ist deshalb ganz unhaltbar. Waage hat nun in seiner Arbeit[1]

[1] Berichte d. deutsch. bot. Ges. 7. Jahrg. 1890. S. 250.

zahlreiche Pflanzenteile auf ihre Rotfärbung mit Vanillin-Salzsäure untersucht und kommt zu dem Schlufs, dafs ca. 85 % sämtlicher Strauch- und Baumpflanzen Phloroglucinent halten, so dafs nach dieser und verschiedenen ähnlichen Arbeiten das Phloroglucin einer der weitverbreitetsten und häufigsten Inhaltsstoffe bei den Pflanzen wäre. Wie gesagt, beruht das auf einer sehr einseitigen Deutung und Verkennung der Reaktion, und ich begreife eigentlich nicht, weshalb sich nicht schon andere Forscher gefunden haben, die mit gleichem Recht behaupten, in den p. p. Pflanzen ist Orcin, Skatol, Indol, Pyrrol, Carbazol u. s. w. enthalten, denn alle diese Körper geben die für Phloroglucin charakteristisch erklärte Reaktion. Hierbei möchte ich noch darauf hinweisen, dafs, wenn es auch auf den ersten Blick unerfindlich erscheint, wie die zuletzt genannten Körper gleiche Reaktion mit Vanillin-Salzsäure geben können, trotzdem sie doch ganz verschiedenen chemischen Gruppen angehören, so erklärt sich doch die Ähnlichkeit dieser Reaktionen leicht daraus, dafs z. B. bei Carbazol das Stickstoffatom in zwei Orthostellen der beiden Benzolringe eingefügt ist und mit je zwei C-Atomen derselben einen geschlossenen fünfgliedrigen Ring bildet, wie dieser ebenso im Pyrrol, Skatol und Indol enthalten ist. Wie sich daher infolge der Gleichartigkeit ihrer Konstitution

die Methylindole analog dem Pyrrol mit Aldehyden, Säureanhydriden und Diazokörpern verbinden, ist auch die Umwandlung von Indol und Methylindol in Derivate des Chinolins ganz ähnlich wie bei Pyrrol, wo Pyridinderivate entstehen. Waage z. B. scheint diese Körper nicht sonderlich gut gekannt zu haben, denn er sagt: „Ähnlich reagieren nur Orcin und Resorcin, doch ist bei diesen die Färbung mehr blauviolett und weniger scharf“ etc. Es mufs nun immerhin sehr schwierig erscheinen, einen charakteristischen Unterschied einer Reaktion mit »violett« bezeichnet von einer »mehr blauvioletten« konstatieren zu sollen, besonders, wenn die Mengenverhältnisse unbekannt und fortwährend schwankend sind. **Aus diesem Grunde habe ich** in obiger Arbeit ähnliche unwesentliche Unterscheidungsmerkmale nicht heranzuziehen gewagt, sondern **den Beweis in erster Linie auf erforschte physikalische Eigenschaften aufzubauen gesucht.** Solche Stoffe krystallinischer Natur können demnach auch als vorhanden überhaupt nicht mehr angenommen werden. **Es ist** dagegen **erwiesen, dafs bei Fucus die Reaktion durch eine colloidale Substanz hervorgerufen wird,** welche die Eigenschaft eines Polysaccharids zeigt, das mit einer stickstoffhaltigen Gruppe, die als Atomkomplex auch vielen Eiweifsstoffen eigen ist, sich verknüpft

erwies. Dieser Körper wäre zu vergleichen mit den Mucinen. Denn dieselben geben, wie meine Substanz, im Gegensatz zu allen anderen Mukoiden mit Essigsäure einen Niederschlag, der sich auch anders wie das ähnliche Paralbumin nicht im Ueberschufs der Säure wieder auflöst. Eine weitere Eigenschaft der Mucine, wie auch der Hyaline ist, dafs sie beim Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren ein die Fehling'sche Lösung reduzierendes Kohlenhydrat, anderseits stickstoffhaltige Produkte liefern, was ja auch durch die Hydrolyse bei dem Extrakt eintrat.

Trotzdem kann die Substanz z. B. nicht reines Mucin sein, da dieses ja die Eiweifsreaktionen zeigt.

Es ist daher mehr als wahrscheinlich, dafs es ein leicht reagierender Proteïnkörper ist, der nach den Eigenschaften der Hyaline hinneigt und als weiteres Charakteristikum der Proteïne nur die zwei letzten Gruppen des Eiweifsmoleküls, die Indolgruppe und die Kohlenhydrat abspaltende gebildet hat.

Die Hauptzüge der vorliegenden Arbeit würden sich in folgenden Sätzen zusammenfassen lassen:

1. **Fettes Öl fehlt bei Fucus, folglich kann das Produkt des Assimilationsprozesses nicht fettes Öl sein.**
2. **Phloroglucin ist nicht vorhanden.**
3. Der bislang als Phloroglucinreaktion an-

gesehenen Vanillin - Salzsäure - Reaktion kommt die Bedeutung einer Identitätsreaktion nicht zu, da sich die Lignin-reaktion nicht ohne Weiteres umkehren lässt.

4. Der betreffende Stoff, welcher als Assimilationsprodukt angesprochen worden ist, und die Vanillin-Salzsäure-Reaktion giebt, ist vielmehr eine colloidale Substanz und zeigt die Eigenschaft eines Polysaccharids, welches mit einer Stickstoffgruppe, wie sie im Atomkomplexe der Eiweißstoffe enthalten ist, verknüpft erscheint, resp. zeigt er die Eigenschaft von Eiweißstoffen, welche bei der Hydrolyse ein reduzierendes Kohlenhydrat neben stickstoffhaltigen Produkten liefern und eine leicht reagierende Indolgruppe enthalten.
5. Die vielen Pflanzen, welche nur auf Grund dieser Reaktion als Inhaltsstoffe Phloroglucin führen sollen, enthalten dasselbe wahrscheinlich ebensowenig, wie es bei dem Hauptrepräsentanten Fucus vesiculosus nachgewiesen wurde.

Selbstverständlich werden dadurch die makrochemisch erwiesenen Befunde vom Vorkommen des Phloroglucins in gewissen Rinden nicht berührt. Es liegen aber sicher, wie bei Fucus, so

auch bei vielen anderen Pflanzen, insbesondere bei all denen, bei welchen die Vanillin-Salzsäure-Reaktion in Zellen mit Schleim führendem Zellsaft oder in Schleimtropfen eintritt, vermutlich immer leicht oxydable Eiweifsstoffe vor, welche wahrscheinlich ein erstes eiweifsartiges Bildungsprodukt des synthetischen Stoffwechsels darstellen.

Da solche Stoffe immer die von verschiedenen Seiten für Phloroglucin gedeutete Reaktion geben und natürlich normaler Weise in sehr vielen Pflanzen zu finden sind, ist es erklärlich, wie Phloroglucin als Inhaltsstoff für unzählige Pflanzen angegeben werden konnte, während es sich in der That wohl nur im Rindengewebe gewisser Rosaceen und hier immer zusammen mit gleichzeitig vorhandenem Gerbstoff findet.

Vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Juli 1895 bis August 1896 im botanischen Institut der Universität Rostock ausgeführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle für die beständige gütige Unterstützung durch Ratschläge und für das rege Interesse, welches Herr Prof. Dr. Falkenberg in liebenswürdigster Weise an dem Fortgange und Gedeihen der Arbeit nahm, sowie Herrn Prof. Dr. Michaelis und Herrn Dr. Hegler meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.